



TITLE:

Long isoform of VEGF stimulates cell migration of breast cancer by filopodia formation via NRP1/ARHGAP17/Cdc42 regulatory network( Abstract\_要旨 )

AUTHOR(S):

Kiso, Marina

---

CITATION:

Kiso, Marina. Long isoform of VEGF stimulates cell migration of breast cancer by filopodia formation via NRP1/ARHGAP17/Cdc42 regulatory network. 京都大学, 2018, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2018-11-26

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k21414>

RIGHT:

京都大学	博士（医学）	氏 名	木曾 末厘乃
論文題目	Long isoform of VEGF stimulates cell migration of breast cancer by filopodia formation via NRP1/ARHGAP17/Cdc42 regulatory network （乳癌において VEGF は NRP1/ARHGAP17/Cdc42 のネットワークを通じて filopodia の形成を促進し migration を誘導する）		
（論文内容の要旨）			
<p>血管内皮増殖因子（VEGF）は、腫瘍血管新生を誘導し、癌の増殖と転移を促進する。抗 VEGF 抗体であるベバシズマブは、転移性乳癌において腫瘍縮小に寄与するが、全生存期間の改善には寄与しないとされている。VEGF は多機能分子であるが、乳癌細胞への直接作用に関する詳細は不明であり、その解明を目的とした。VEGF のノックアウトは、ヒト乳癌由来の MDA-MB-231 細胞(231<sup>WT</sup>)の形態をより円形で周径を短くし(231<sup>VEGFKOex3</sup>: 1.6-fold, <i>P</i>0.0001)、更に migration を抑制した(2.6-fold, <i>P</i>=0.002)。また、VEGF とニューロピリン 1(NRP1) の結合を阻害する可溶化型 NRP1(sNRP)を高発現させる(231<sup>sNRP1</sup>)、NRP1 をノックダウンさせると、有意に 231<sup>VEGFKOex3</sup>細胞と同様の形態変化を現し、migration も抑制されていた。231<sup>VEGFKOex3</sup>細胞に NRP1 結合ドメインのある VEGF165 を投与すると、細胞周径や migration は 231<sup>WT</sup>レベルに回復した(<i>P</i>=0.0005)が、NRP1 結合ドメインのない isoform の VEGF121 の投与では同様の変化は認められなかった。231<sup>WT</sup>細胞に VEGF レセプター(VEGFR)はほとんど発現しておらず、VEGF/VEGFR の結合を阻害するベバシズマブの投与による形態学的変化や migration の抑制はみられなかった。この結果から、231<sup>WT</sup>細胞では NRP1 結合ドメインのある long isoform VEGF は、NRP1 を介し、細胞の形態変化や migration を制御することが示唆された。次に、マイクロアレイを用いて VEGF/NRP1 の下流にある遺伝子の同定を試みた。231<sup>WT</sup>細胞での発現に比し 231<sup>VEGFKOex3</sup>細胞で発現上昇のある、また VEGF165 投与によって発現が回復する遺伝子リストの上位に <i>ARHGAP17</i>を認めた。この遺伝子はmigrationに関与し、Cdc42 の活性抑制を介して filopodia の形成を抑制するとされる。231<sup>VEGFKO</sup>細胞、231<sup>sNRP1</sup>細胞で、<i>ARHGAP17</i>の発現は上昇、Cdc42 の活性が抑制されており、電子顕微鏡で観察したが、filopodia の形成は抑制されていた(<i>P</i>0.0001)。VEGF/NRP1 シグナルの低下は、ARHGAP17 発現上昇を介して filopodia の形成を抑制し、形態学的変化や migration の制御につながると考えられた。さらに、公共データベースを用い乳癌 1980 症例の遺伝子発現データを解析した。ホルモン受容体陰性乳癌で、ARHGAP17 発現と VEGF/SEMA3A 比には負の相関が示唆され、VEGF/SEMA3A 比が高いと予後不良の傾向が示された。VEGF/NRP1/ARHGAP17 経路はヒト乳癌においても予後に関る何らかの役割を果たしていると考えられた。</p> <p>VEGF の乳癌細胞へのシグナルは、NRP1 を介して ARHGAP17 発現を抑制し、Cdc42 活性化を誘導、filopodia 形成を促進していることが示された。乳癌では VEGF/NRP1/ARHGAP17/Cdc42 network は重要な役割を果たしていると考えられる。</p>			

<p>(論文審査の結果の要旨)</p> <p>血管内皮増殖因子 (VEGF) の乳癌細胞への直接作用に関しては不明な点が多い。VEGF 受容体を発現していないヒト乳癌細胞株を用い、VEGF のノックアウトとベバシズマブ処理により細胞形態、細胞運動能が変化したことから、VEGF が NRP1 を介してシグナル伝達を行うと仮説をたて、可溶化型 NRP1 の導入や NRP1 ノックダウンによる検討を行った。遺伝子発現解析から、VEGF/NRP1 シグナルの下流に ARHGAP17 があることを同定し、検証した。また、ARHGAP17 が Cdc42 活性調節を介して filopodia 形成を制御することを、走査型電子顕微鏡を用い観察した。NRP1 結合ドメインのある VEGF165 とそれが無い VEGF121 では NRP1 への作用が異なることを示した。公共データベースから得た乳癌遺伝子発現データの解析からは、ホルモン受容体陰性乳癌症例において、VEGF 発現と ARHGAP17 発現とは逆相関の傾向にあり、予後への関与も示唆された。これらの結果から、乳癌細胞では VEGF/ NRP1/ ARHGAP17/ Cdc42 シグナル経路が存在しており、その経路は filopodia 形成を介して細胞運動能を制御していると結論づけた。</p> <p>以上の研究は乳癌細胞に対する VEGF の直接作用の解明に貢献し、今後の乳癌研究・治療の発展に寄与するところが多いと考えられる。</p> <p>したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、平成30年10月3日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p>			
要旨公開可能日：                      年            月            日 以降			